DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) - Italy
www.diasorin.com

Modificaciones: §
Supresiones: §

LIAISON® Direct Renin (REF 310470)

1. FINALIDAD DEL ENSAYO

El ensayo LIAISON® Direct Renin emplea la tecnología de la quimioluminiscencia (CLIA) en un ensayo inmunológico para la determinación cuantitativa *in vitro* de la renina en muestras de plasma humano obtenido con EDTA. La determinación de la renina es útil en el diagnóstico y en el tratamiento de varios tipos de hipertensión en el hombre.
El ensayo debe realizarse en la serie de instrumentos LIAISON® Analyzer.

2. SUMARIO Y EXPLICACIÓN DEL TEST

La enzima proteolítica renina (peso molecular: aproximadamente 42 kDa) es sintetizada principalmente por las células yuxtaglomerulares del riñón bajo forma de prorrenina y es almacenada bajo forma de gránulos de prorrenina o renina. La renina se libera como respuesta a estímulos fisiológicos como por ejemplo la disminución del volumen hemático y de la presión arterial y la pérdida de sodio. El precursor inactivo de la renina es la prorrenina, que se convierte en renina en dos fases. Primero, la prorrenina sufre un cambio de conformación reversible (que origina la prorrenina activada); seguidamente, 46 aminoácidos de la prorrenina se separan por vía proteolítica para producir la renina activa, una glicoproteina formada por 340 residuos de aminoácidos. Una parte de la prorrenina no sufre la separación proteolítica de los aminoácidos que la transforma en renina y se libera en la circulación. La prorrenina puede activarse por diferentes medios, como por ejemplo, crioactivación, acidificación o proteolisis parcial. La secreción de la prorrenina no es regulada rígidamente, mientras que la secreción de la renina está controlada estrictamente. La concentración hemática de prorrenina es aproximadamente diez veces mayor que la de la renina. La renina es considerada una enzima de doble dominio porque los fragmentos N- y C-terminales son muy similares. Cada dominio contiene un residuo solo de ácido aspártico, fundamental para la actividad catalítica.

La renina cataliza la formación de angiotensina I (un decapéptido) por ataque proteolítico del sustrato de la renina, llamado angiotensinógeno, una glicoproteina sintetizada en el hígado. La enzima de conversión de la angiotensina (angiotensin-converting enzyme, ACE), a su vez, convierte la angiotensina I en angiotensina II, un octapéptido que estimula la secreción de aldosterona e inhibe la secreción de renina con un mecanismo de feedback (retroacción) negativo. El sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) juega un papel de importancia fundamental en la homeostasis hídrica y salina y en la regulación de la presión arterial. Por lo tanto, la medición de la renina y de la aldosterona plasmáticas es considerada un indicador de la actividad del sistema renina-angiotensina-aldosterona. La medición de la renina total (prorrenina y renina activa) o de la prorrenina tienen menor importancia clínica. Teóricamente, la angiotensina II es un mejor indicador, pero tiene una vida media muy breve y es difícil diferenciarla de la angiotensina I.

El angiotensinógeno, el sustrato de la renina, es el factor que limita la producción de la angiotensina II. En efecto, su disponibilidad contribuye en parte a la estimulación o a la inhibición del sistema renina-angiotensina-aldosterona. La angio-tensina no se almacena en las células hepáticas donde se sintetiza, a diferencia de la renina, que se almacena en los riñones, donde es producida. Un aumento del nivel de hormonas tiroideas (hipertiroidismo), de estrógenos (anticonceptivos orales, embarazo) o de glucocorticoides (síndrome de Cushing, terapia con cortisona) provoca el aumento de los niveles del sustrato de la renina.

La angiotensina II interviene en el control de la filtración glomerular y de la perfusión renal. La renina es secretada por los riñones como respuesta a la reducción de la perfusión de la arteria renal (barorreceptor intrarrenal), a la reducción de la reabsorción de iones sodio en el túbulo distal (pérdida de sodio), a la hipopotasemia o a la estimulación de los receptores β-adrenérgicos. Además, la secreción de la renina se reduce por feedback negativo en presencia de concentraciones plasmáticas elevadas de angiotensina II.

Se observa un aumento de los niveles de renina en	Se observa una disminución de los niveles de renina en
Aldosteronismo secundario (hipertensión grave de origen renal). La medición directa de la renina es útil en el diagnóstico diferencial de hiperaldosteronismo primario y secundario junto con el análisis de la aldosterona.	Aldosteronismo primario. La medición directa de la renina es útil en el diagnóstico diferencial de hiperaldosteronismo primario y secundario junto con el análisis de la aldosterona.
Enfermedad de Addison.	Retención de sales después de una terapia esteroidea.
Dieta pobre en sodio, administración de diuréticos, hemorragias.	Terapia con vasopresina (ADH).
Insuficiencia renal crónica.	Hiperplasia suprarrenal congénita con déficit de 17-hidroxilasa.
Pérdida de sales como consecuencia de enfermedades gastro-entéricas.	
Tumores renales que sintetizan renina.	
Hipertensión esencial.	
Hipopotasemia.	
Síndrome de Bartter (niveles elevados de renina sin hiperten-sión).	
Estenosis de la arteria renal.	

Desde el punto de vista general, la población con presión sistólica constantemente superior a 160 mmHg y/o presión diastólica superior a 95-100 mmHg (hipertensión) exige tratamiento anti-hipertensivo. La incidencia mundial de muerte correlacionada a hipertensión es aproximadamente cinco millones por año.

Existen dos tipos de hipertensión:
Esencial o primaria (90-95% del total), donde se desconece la causa que la origina.
Hipertensión secundaria (5-10%), es decir debida a una causa subyacente, que puede tener los siguientes orígenes:

– Hipertensión asociada a insuficiencia renal (2-3% de origen vascular; 2-3% de origen parenquimal).
– Hipertensión asociada a trastornos hormonales.
– Hipertensión asociada a tumores endócrinos (muy rara).
– Hipertensión iatrógena (por ejemplo debida a anticonceptivos orales, 1%).
– La renina se mide bajo prescripción médica cuando:
– La presión diastólica es superior a 90 mmHg (líneas guía de la Sociedad Europea de Hipertensión y de la Sociedad Europea de Cardiología).
– La presión sistólica es superior a 140 mmHg (líneas guía de la Sociedad Europea de Hipertensión y de la Sociedad Europea de Cardiología).
– Se sufre de hipopotasemia (para establecer el diagnóstico diferencial de hiperaldosteronismo secundario o de hipermineralcorticoidismo primario).
– La respuesta al tratamiento anti-hipertensivo habitual es insuficiente.
– Se estudia el carácter funcional de una estenosis de la arteria renal (midiendo la renina en las venas renales durante la inhibición de la enzima de conversión de la angiotensina).
– Un tumor está vinculado a un aumento de la presión arterial (para establecer el diagnóstico diferencial de producción ectópica de renina).

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

El método para la determinación cuantitativa de la renina es un ensayo inmunológico de tipo *sandwich* basado en el principio de la quimioluminiscencia.
Un anticuerpo monoclonal de ratón específico, que reconoce tanto la renina como la prorrenina, recubre las partículas magnéticas (fase sólida); otro anticuerpo monoclonal (específico para la renina) está enlazado a un derivado del isoluminol (conjugado anticuerpo-isoluminol).
Durante la incubación, la renina presente en los calibradores o en los controles así como también la renina y la prorrenina presentes en las muestras enlazan el anticuerpo monoclonal en fase sólida, el anticuerpo conjugado reacciona en seguida con la renina, ya enlazada en la fase sólida. Se forma un *sandwich* sólo en presencia de las moléculas de renina que crean un puente entre los dos anticuerpos. Después de la incubación, se elimina el material no enlazado mediante un ciclo de lavado.
A continuación, se añaden los reactivos starter que inducen una reacción de quimioluminiscencia. La señal luminosa, y por lo tanto la cantidad de conjugado anticuerpo-isoluminol, se mide con un fotomultiplicador en unidades relativas de luz (RLU, relative light units) y es directamente proporcional a la concentración de renina presente en los calibradores, en las muestras o en los controles.

Para impedir la sobreestimación de la renina, se deben evitar condiciones de procesamiento de las muestras que activen la prorrenina (consulte el apartado Recogida y Preparación de las Muestras).

4. MATERIALES SUMINISTRADOS

El orden de los reactivos refleja el orden con el que se han ensamblado los contenedores en el integral de reactivos.

Integral de reactivos para 100 determinaciones	
2,3 mL	Suspensión de partículas magnéticas recubiertas de anticuerpo anti-renina y prorrenina (monoclonal de ratón), albúmina sérica bovina, tampón PBS, < 0,1% azida sódica.
13 mL	Solución de conjugado: anticuerpo anti-renina (monoclonal de ratón) conjugado con un derivado del isoluminol, IgG de ratón no específica, albúmina sérica bovina, tampón PBS, 0,2% ProClin® 300, conservantes.

En el kit se incluyen:

5 x 2,0 mL	Calibrador A (liofilizado): renina humana recombinante (proteasa ácida activa de 340 aminoácidos producida en células renales embrionarias humanas transfectadas con una construcción de DNA codificante para renina humana), tampón fosfato, albúmina sérica bovina, un colorante amarillo inactivo, 0,2% ProClin® 300, conservantes.
5 x 2,0 mL	Calibrador B (liofilizado): renina humana recombinante (proteasa ácida activa de 340 aminoácidos producida en células renales embrionarias humanas transfectadas con una construcción de DNA codificante para renina humana), tampón fosfato, albúmina sérica bovina, un colorante azul inactivo, 0,2% ProClin® 300, conservantes.
5 x 2	Etiquetas con códigos de barras para el calibrador A y para el calibrador B.
El conjugado y las partículas magnéticas se suministran listos para su uso. Los calibradores se suministran liofilizados.	

Materiales requeridos, pero no suministrados (relacionados con el sistema)

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016) LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015) LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200) – LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100) LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025) –	LIAISON® Module (REF 319130) – LIAISON® Starter Kit (REF 319102) o LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200) LIAISON® Light Check (REF 319101) LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100) LIAISON® Waste Bags (REF 450003) LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990)

Otros materiales requeridos

Controles LIAISON® Direct Renin, niveles 1 y 2 (REF 310471)
LIAISON® Endocrinology Diluent (REF 319133)

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

6. NORMAS DE SEGURIDAD

No coma, beba, fume o se maquille durante la ejecución del ensayo.

No pipetee las soluciones con la boca.

Evite el contacto directo con el material potencialmente infeccioso usando batas de laboratorio, gafas de protección y guantes desechables. Lávese cuidadosamente las manos al terminar el ensayo.

Evite salpicaduras o formación de aerosoles. En caso de que esto sucediera, cada gota de reactivo se debe eliminar con una solución de hipoclorito sódico al 5% y el medio utilizado se deberá tratar como material residuo potencialmente infeccioso.

Todas las muestras, los reactivos biológicos del kit y los materiales usados para efectuar el ensayo se deben considerar capaces de transmitir agentes infecciosos; por lo tanto los residuos se deberán eliminar de acuerdo con las reglamentaciones de las agencias autorizadas que tengan jurisdicción sobre el laboratorio, y con las normativas de cada país.

Los reactivos que contienen ProClin® 300 se clasifican como irritantes según las Directivas Europeas aplicables:
R 43 - Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
S 24 - Evítese el contacto con la piel.
S 37 - Úsense guantes adecuados.
S 60 - Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.

7. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

INTEGRAL DE REACTIVOS

Para manipular los reactivos es preciso adoptar una serie de precauciones importantes:

Resuspensión de las partículas magnéticas

Las partículas magnéticas deben estar completamente resuspendidas antes de colocar el integral en el instrumento. Siga los pasos indicados a continuación para garantizar la suspensión completa de las partículas:
Antes de quitar el precinto, gire la rueda pequeña del compartimento de partículas magnéticas hasta que la suspensión adopte un color marrón. Agite horizontalmente el integral de reactivos con delicadeza y sumo cuidado para facilitar la suspensión de las partículas magnéticas (evite la formación de espuma). Controle visualmente el fondo del contenedor de las partículas magnéticas para cerciorarse de que no hayan quedado partículas magnéticas sedimentadas. Si es necesario, repita el procedimiento hasta que las partículas magnéticas estén completamente resuspendidas. Si es necesario, seque con mucho cuidado la superficie de cada pared cuando quite el precinto para eliminar el líquido residual.

Formación de espuma en los reactivos

Para garantizar las mejores prestaciones del integral, se recomienda evitar la formación de espuma en los reactivos. Respete las recomendaciones siguientes:
Antes de usar el integral, controle visualmente los reactivos para excluir la presencia de espuma. Si se observa la presencia de espuma tras la resuspensión de las partículas magnéticas, coloque el integral en el instrumento y deje que se disuelva la espuma. El integral está listo para el uso una vez que se ha disuelto la espuma, que ha permanecido en el instrumento y que se ha agitado.

Instalación del integral en el área de reactivos

LIAISON® Analyzer

– Coloque el integral en el área de reactivos del analizador con la etiqueta de código de barras orientada a la izquierda y espere 30 minutos antes de utilizarlo. Las partículas magnéticas se agitan automáticamente y se resuspenden por completo en el analizador.
– Consulte el manual del usuario del analizador para introducir las muestras y comenzar el ensayo.

LIAISON® XL Analyzer

– El instrumento LIAISON® XL Analyzer incorpora un dispositivo magnético que favorece la dispersión de las micropartículas antes de colocar un integral de reactivos en el área de reactivos del analizador. Consulte los detalles en el manual del usuario del analizador.
  a. Coloque el integral de reactivos en la ranura específica.
  b. Deje el integral de reactivos en el dispositivo magnético durante al menos 30 segundos (varios minutos como máximo). Si es necesario, repita la operación.
– Coloque el integral en el área de reactivos del analizador con la etiqueta orientada a la izquierda y espere 15 minutos antes de utilizarlo. Las partículas magnéticas se agitan automáticamente y se resuspenden por completo en el analizador.
– Consulte el manual del usuario del analizador para introducir las muestras y comenzar el ensayo.

CALIBRADORES

Los calibradores del LIAISON® Direct Renin se suministran liofilizados.

– Reconstituya el contenido de los frascos con 2,0 mL de agua desionizada o destilada.
– Deje los frascos durante 10-15 minutos a 18-25°C hasta que el contenido se disuelva por completo.
– Mezcle bien los frascos mediante una inversión suave; evite la formación de espuma.
– La solución reconstituida de cada calibrador debe transferirse a un tubo de poliestireno de 12 x 75 mm. Adhiera al tubo del calibrador la etiqueta correspondiente con el código de barras y colóquelo en el instrumento. Con cada solución de los calibradores se pueden realizar tres calibraciones.

Consulte el apartado 8 para conservar los calibradores después de la reconstitución.
Para obtener información detallada sobre el uso de los calibradores en el instrumento, consulte el manual del usuario correspondiente.

CONTROLES

Para preparar y manipular los controles correctamente, consulte las instrucciones incluidas con el juego de controles LIAISON® Direct Renin.

8. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

INTEGRAL DE REACTIVOS

– **Sellado**: Estable a 2-8°C hasta la fecha de caducidad.
– **Abierto en el instrumento o a 2-8°C**: Estabilidad mínima seis semanas.
  Después de este intervalo de tiempo, se puede seguir usando el integral de reactivos, siempre que los controles permanezcan dentro de los límites esperados.
– Use siempre el mismo analizador con el integral de reactivos abierto.
– Use las gradillas suministradas con el analizador para mantener el integral en posición vertical.
– No congele.
– Mantenga el integral de reactivos en posición vertical durante la conservación para facilitar la resuspensión de las partículas magnéticas.
– Mantenga protegido de la luz directa.

CALIBRADORES

– **Liofilizados**: Estables a 2-8°C hasta la fecha de caducidad. A su llegada, los calibradores deben conservarse a 2-8°C en posición vertical para evitar que el liófilo se adhiera a la tapa del frasco.
– **Reconstituidos**: Estables durante dos semanas si se conservan a 2-8°C en los frascos originales bien cerrados o en los tubos de ensayo tapados. Después de la reconstitución, los calibradores deben conservarse a 2-8°C en posición vertical para evitar que la solución se adhiera a la tapa del frasco o del tubo de ensayo.

No exponga los calibradores reconstituidos a temperatura ambiente durante más tiempo del necesario para procesarlos en el analizador.
Durante la manipulación de los calibradores, adopte las precauciones necesarias para evitar la contaminación microbiana.

9. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Si durante la manipulación de las muestras se produce la crioactivación de la prorrenina, precursor inactivo de la renina, en renina, se obtienen resultados falsamente elevados. La crioactivación se produce cuando las muestras se enfrían por mucho tiempo a una temperatura de 4°C o inferior, o cuando las muestras están frías pero todavía líquidas (no congeladas). La crioactivación de prorrenina en renina es más rápida en el suero. La concentración hemática de prorrenina es aproximadamente diez veces superior a la de la renina.

El único tipo de muestra que se puede usar es plasma humano obtenido con EDTA. El uso de suero y plasma obtenido con heparina o citrato proporciona valores de renina inferiores y por lo tanto está desaconsejado.
Se recomienda estandarizar cuidadosamente la preparación del paciente y las condiciones de recogida de la muestra. Recoja la sangre extraída a temperatura ambiente por punción en vena, en un tubo de ensayo de vidrio con silicona, en un tubo vacutainer (con tapón de color violeta) o equivalente, con EDTA como anticoagulante. La presencia de hemólisis puede indicar una manipulación incorrecta de las muestras durante la recogida o la preparación de las mismas.
Se recomienda si bien no es indispensable, recoger las muestras en sujetos en ayunas. Escriba la hora del día en el que se recogió la muestra y la posición del paciente (supina, erecta, sentada). No enfríe con anterioridad los tubos de ensayo para la recogida con EDTA ni los sumerja en baño de hielo, manipule las muestras a temperatura ambiente. Centrifugue los tubos de ensayo utilizando una centrifugadora no refrigerada, separa el plasma con EDTA de las células inmediatamente después de la centrifugación y conserve las muestras a –20°C o a temperaturas inferiores subdivididas en alícuotas congeladas instantáneamente.

Antes de realizar el ensayo descongele con precaución, agite las muestras descongeladas y elimine las burbujas de aire que pudiera haber.
No use muestras fuertemente hemolizadas o lipémicas, ni muestras que presenten material suspendido o evidente contaminación microbiana.
No use muestras coaguladas.
Evite ciclos repetidos de congelación y descongelación.
Se recomienda analizar las muestras de plasma inmediatamente después de haberlas colocado en el instrumento.
El volumen mínimo de muestra necesario para una determinación es 355 µL (205 µL de muestra + 150 µL de volumen muerto).

10. CALIBRACIÓN

La prueba de los calibradores específicos del ensayo permite utilizar los valores RLU (unidades relativas de luz) detectados para ajustar la curva maestra asignada. Con cada solución de los calibradores se pueden realizar tres calibraciones.

Los calibradores solo deben utilizarse con el lote de integral de reactivos correspondiente. No utilice calibradores asociados con un lote de integral de reactivos diferente en el mismo ensayo. Para garantizar la elección del lote correcto, el número de lote del calibrador también aparece impreso en la etiqueta del integral de reactivos.

La calibración debe realizarse por triplicado cada vez que se verifique al menos una de las siguientes condiciones:
– Se usa un nuevo lote de reactivos starter.
– Han pasado más de dos semanas desde la última calibración.
– Se usa un nuevo lote de integral de reactivos.
– El analizador ha recibido asistencia técnica.
– Los valores de control están fuera de los rangos esperados.

LIAISON® Analyzer: Los valores de los calibradores están almacenados en los códigos de barras del integral de reactivos.
LIAISON® XL Analyzer: Los valores de los calibradores están almacenados en la etiqueta de identificación por radiofrecuencia (RFID) del integral de reactivos.

11. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Para obtener resultados correctos, es preciso respetar estrictamente las instrucciones proporcionadas en el manual del analizador.

LIAISON® Analyzer. Cada parámetro de la prueba se identifica mediante el código de barras incluido en la etiqueta del integral de reactivos. Si el código de barras no se puede leer, no será posible usar el integral y tendrá que desecharse. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.

LIAISON® XL Analyzer. Cada parámetro de la prueba se identifica mediante la información codificada en la etiqueta de identificación por radiofrecuencia (RFID) del integral de reactivos. Si la etiqueta no se puede leer, no será posible usar el integral y tendrá que desecharse. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.

En caso de que los códigos de barras de los calibradores externos no se lean correctamente, los datos indicados en las etiquetas de los mismos (debajo del código de barras) pueden introducirse manualmente en la serie de instrumentos LIAISON® Analyzer. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.

Las operaciones del analizador son las siguientes:
1. Dispensa los calibradores, los controles o las muestras en el módulo de reacción.
2. Dispensa las partículas magnéticas recubiertas.
3. Dispensa el conjugado en el módulo de reacción.
4. Incuba.
5. Lava con el líquido de lavado/líquido del sistema.
6. Añade los reactivos starter y mide la luz emitida.

12. CONTROL DE CALIDAD

Los controles LIAISON® deben analizarse individualmente para determinar la eficacia del ensayo. En el control de calidad es preciso utilizar los controles LIAISON® Direct Renin
(a) por lo menos una vez por cada día de trabajo,
(b) cuando se usa un nuevo integral de reactivos,
(c) cuando se calibra el kit,
(d) cuando se usa un nuevo lote de reactivos starter,
(e) para determinar la eficacia del integral de reactivos abierto después de más de seis semanas, o conforme a lo estipulado en las normas y los requisitos de los reglamentos locales o los organismos acreditados.

Los valores de control deben permanecer dentro de los rangos previstos. Cada vez que el valor de uno o ambos controles no coincida con el rango esperado, habrá que repetir la calibración y evaluar de nuevo los controles. Si los valores siguen fuera de rango tras una calibración satisfactoria, será preciso repetir la prueba usando un frasco de control sin abrir. Los resultados no deben notificarse si los valores de control están fuera del rango previsto.

Antes de utilizar otros controles es preciso evaluar su compatibilidad con este ensayo, así como establecer los intervalos de valores que se van a aplicar a todos los materiales de control de calidad utilizados.

13. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El analizador calcula automáticamente las concentraciones de renina de las muestras desconocidas expresadas en µUI/mL y clasifica los resultados. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.
Aunque los calibradores y los controles pueden generar resultados de RLU o dosis distintos en LIAISON® y LIAISON® XL, los resultados de los pacientes son equivalentes.

Intervalo de ensayo: El analizador calcula automáticamente las concentraciones de renina hasta 500 µUI/mL.

Estándar de referencia: El ensayo está calibrado según la Preparación Internacional de Referencia de la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization International Reference Preparation) NIBSC código 68/356. Los resultados están expresados en µUI/mL.

Datos clínicos: Cada laboratorio debe establecer sus propios intervalos de referencia para la población tomada en consideración. Para determinar el intervalo de los valores esperados se ha realizado un estudio en 178 muestras de plasma obtenido con EDTA (89 sujetos).
Las muestras se han recogido en una población mantenida en ayunas, formada por donantes de sangre aparentemente sanos, hombres (n = 49) y mujeres (n = 40) de raza caucásica y de origen afro-americana, hispánica y asiática, que satisface los siguientes criterios de inclusión:
sujetos adultos de 18-65 años de edad, con presión arterial normal y niveles normales de glucosa en ayunas.
Los siguientes criterios han impedido incluir en el estudio: menores de 18 años; uso de fármacos prescritos por el médico; dieta prescrita por el médico; embarazo; lactancia materna y uso de anticonceptivos orales.

Las muestras de sangre se han extraído entre las 7:00 y las 10:00 de la mañana en sujetos mantenidos tanto en posición erecta como en posición supina. Las muestras en posición erecta se recogieron cuando los sujetos se sentaron después de estar parados durante 30 minutos; las muestras en posición supina se recogieron en los sujetos después de haber permanecido acostados por al menos 30 minutos.
Se obtuvieron los siguientes intervalos (5°-95° percentil):
4,4-46,1 µUI/mL (posición erecta) y 2,8-39,9 µUI/mL (posición supina).

14. LIMITACIONES DEL ENSAYO

- Los reactivos del kit deben usarse sólo en el sistema LIAISON®.
- Los calibradores son específicos para cada lote y no deben utilizarse con un integral de reactivos perteneciente a otro lote.
- Los componentes individuales del integral de reactivos no deben ser separados del integral.
- El kit no debe usarse después de la fecha de caducidad que figura en la etiqueta externa.
- Para obtener resultados fiables es necesario atenerse estrictamente a las instrucciones de utilización y poseer una adecuada técnica manual.
- La contaminación bacteriana de las muestras o la inactivación mediante calentamiento pueden modificar los resultados del análisis.
- Un resultado aparentemente normal no excluye la posibilidad de la presencia de una patología y debe evaluarse junto con el cuadro clínico del paciente y con otros procedimientos diagnósticos.
- Los resultados del test se muestran de manera cuantitativa. Sin embargo, el diagnóstico de una patología no se debe formular en base al resultado de un solo ensayo, sino que éste se debe validar con otras pruebas clínicas y con la opinión del médico. Cada decisión terapéutica debe ser tomada caso por caso.
- El kit LIAISON® Direct Renin se ha puesto a punto para la determinación del analito de forma intacta e inalterada. La degradación de la molécula o la crioactivación de la prorrenina pueden influir en los resultados finales.
- Aunque estén presentes agentes capaces de neutralizar los anticuerpos anti-ratón (HAMA, human anti-mouse antibodies), concentraciones de HAMA extremadamente elevadas algunas veces pueden influir en los resultados del ensayo.
- No se han estudiado los niveles de renina en edad pediátrica.
- No se han estudiado las interferencias debidas a la administración de fármacos.
- Las muestras que contienen niveles de renina por encima del intervalo de ensayo pueden prediluirse con LIAISON® Endocrinology Diluent (REF 319133).
- Los integrales no deben utilizarse con los dos tipos de analizadores (LIAISON® y LIAISON® XL). Una vez que se ha usado un integral con un tipo de analizador concreto, debe seguir usándose en ese analizador hasta que se termine. Por motivos de trazabilidad relacionados con lo antes expuesto, es necesario terminar el seguimiento de los pacientes con el mismo tipo de analizador. Los seguimientos deben realizarse en un único tipo de analizador (LIAISON® o LIAISON® XL).

15. PRESTACIONES METODOLÓGICAS DEL KIT

15.1. Especificidad analítica

La especificidad analítica se define como la capacidad que tiene el test para detectar exactamente el analito ante la presencia de factores potencialmente interferentes en la matriz de la muestra (por ejemplo, hemólisis, lipemia, bilirrubinemia).

Interferencias. Estudios controlados sobre los factores potencialmente interferentes han demostrado que las prestaciones del test no están influenciadas por las concentraciones de bilirrubina hasta 20 mg/dL, de hemoglobina hasta 500 mg/dL o de triglicéridos hasta 3000 mg/dL.

Reacciones cruzadas. La presencia de las siguientes moléculas, que pueden ocasionar, potencialmente, reacciones cruzadas en el ensayo, ha mostrado las interferencias ilustradas a continuación. El test se ha realizado según las líneas guía del Instituto para Estándares Clínicos y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI, USA), Documento N. EP07-A2.

Molécula	Cantidad añadida a la muestra, µg/mL	% Reactividad cruzada
$Beta_2$-microglobulina	50	– 7,0
Catepsina D	1,5	– 6,9
Tripsina	1,6	– 4,2
Plasmina	100	0,8

En ausencia de una preparación estándar de prorrenina, la reactividad cruzada de la prorrenina ha sido evaluada utilizando dos preparaciones disponibles en el mercado de prorrenina recombinante y de renina recombinante. Se han preparado dos grupos de cinco soluciones con las mismas concentraciones de las dos moléculas y las muestras así preparadas (intervalo: 0,78-12,5 ng/mL) se han analizado con inmunoensayos para la medición de la renina directa que demuestran ausencia de reactividad cruzada por parte de la prorrenina. En la tabla siguiente se muestra la relación entre la señal emitida por cada solución de prorrenina y la señal emitida por la solución de renina correspondiente.

Inmunoensayo	Test CLIA renina directa	Test IRMA renina directa	Liaison Direct Renin
Relación media entre prorrenina y renina	0,16	0,56	0,26

15.2. Precisión con LIAISON® Analyzer

La repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) han sido determinadas utilizando muestras en diferentes concentraciones de analito. Los resultados se refieren a los grupos de pacientes tomados en consideración; no se trata de prestaciones garantizadas porque pueden existir diferencias entre los diferentes laboratorios.

Repetibilidad. Para evaluar la repetibilidad se han analizado veinte replicados en la misma sesión analítica en el laboratorio donde se desarrolló el kit.

Repetibilidad	A	B	C	D	Control 1	Control 2
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	15,1	33,8	82,2	258,0	27,1	99,0
Desviación estándar (µUI/mL)	0,6	0,9	1,7	3,1	1,5	2,3
Coeficiente de variación (%)	3,7	2,8	2,0	1,2	5,6	2,4
Valor mínimo (µUI/mL)	13,4	32,4	78,5	252,8	24,1	95,3
Valor máximo (µUI/mL)	15,7	35,9	84,6	264,4	29,9	102,5

Reproducibilidad. Para evaluar la reproducibilidad se han analizado veinte replicados en días diferentes (una o dos sesiones analíticas al día) utilizando dos lotes diferentes de integral por cada sitio. Los ensayos se realizaron en dos sitios, en el laboratorio donde se desarrolló el kit (sitio 1) y en un laboratorio independiente (sitio 2) utilizando los mismos instrumentos.

Reproducibilidad - Sitio 1	E	A	B	C	D	Control 1	Control 2
LOTE Nr. 02							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	5,1	13,2	34,1	82,4	260,3	27,2	103,2
Desviación estándar (µUI/mL)	0,5	1,6	1,9	4,3	12,3	1,9	4,4
Coeficiente de variación (%)	10,0	12,4	5,7	5,2	4,7	6,9	4,2
Valor mínimo (µUI/mL)	4,1	11,4	30,8	74,3	241,6	24,3	93,7
Valor máximo (µUI/mL)	5,9	17,2	38,4	88,7	278,8	30,4	111,0
LOTE Nr. 03							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	5,3	13,1	34,7	83,5	266,7	27,3	102,9
Desviación estándar (µUI/mL)	0,5	1,7	1,8	2,8	7,8	1,8	3,3
Coeficiente de variación (%)	9,5	12,8	5,3	3,4	2,9	6,6	3,2
Valor mínimo (µUI/mL)	4,4	10,9	31,8	77,4	254,9	24,3	93,9
Valor máximo (µUI/mL)	6,9	17,7	40,3	88,4	282,7	31,7	107,2
Coeficiente de variación inter-lotes (%)	2,7	0,6	1,2	0,9	1,7	0,4	0,2

Reproducibilidad - Sitio 2	A	B	C	D	Control 1	Control 2
LOTE Nr. 01						
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	18,8	38,4	79,1	228,6	27,5	97,2
Desviación estándar (µUI/mL)	3,1	2,8	5,9	22,4	1,9	9,5
Coeficiente de variación (%)	16,5	7,4	7,5	9,8	7,0	9,8
Valor mínimo (µUI/mL)	15,8	34,2	61,1	188,6	24,2	83,0
Valor máximo (µUI/mL)	26,4	44,1	88,9	270,0	32,0	116,5
LOTE Nr. 03						
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20
Media (µUI/mL)	15,8	34,8	85,4	260,8	26,8	103,2
Desviación estándar (µUI/mL)	2,7	2,1	5,2	26,5	2,8	7,5
Coeficiente de variación (%)	17,1	6,1	6,1	10,2	10,6	7,3
Valor mínimo (µUI/mL)	12,9	32,3	75,2	214,5	22,1	91,0
Valor máximo (µUI/mL)	22,7	38,4	93,7	306,2	31,7	116,3
Coeficiente de variación inter-lotes (%)	12,2	7,0	5,4	9,3	1,9	4,2

15.3. Precisión con LIAISON® XL Analyzer

Para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir, las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) se utilizaron muestras con diferentes concentraciones de analito específico. La variabilidad mostrada en las tablas no ha dado lugar a una clasificación errónea de las muestras.

Repetibilidad. Para evaluar la repetibilidad se analizaron veinte réplicas en la misma serie.

Repetibilidad	1	2	3	4	5	6	7	Control 1	Control 2
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Valor medio (µUI/mL)	3,471	11,68	22,35	47,37	93,52	169,1	267,9	29,98	111,0
Desviación estándar (µUI/mL)	0,169	0,30	0,82	1,99	2,36	5,41	11,44	0,64	2,64
Coeficiente de variación (%)	4,87	2,58	3,67	4,21	2,52	3,20	4,27	2,12	2,38
Valor mínimo (µUI/mL)	3,156	10,99	20,72	40,65	87,94	160,8	250,4	28,96	105,0
Valor máximo (µUI/mL)	3,790	12,11	24,09	49,54	98,68	180,0	287,3	31,32	115,5

Reproducibilidad. Para evaluar la reproducibilidad se han analizado veinte réplicas en días diferentes (una o dos sesiones analíticas al día).

Reproducibilidad	1	2	3	4	5	6	7	Control 1	Control 2
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Valor medio (µUI/mL)	5,779	15,83	21,70	42,09	78,43	158,0	255,9	28,38	107,5
Desviación estándar (µUI/mL)	0,753	1,29	1,84	3,66	5,49	11,80	20,02	1,83	7,87
Coeficiente de variación (%)	13,03	8,12	8,49	8,69	7,01	7,47	7,82	6,81	7,32
Valor mínimo (µUI/mL)	4,548	13,34	18,39	35,04	65,44	132,3	204,9	24,72	92,07
Valor máximo (µUI/mL)	7,121	17,73	24,98	49,98	85,80	172,5	281,2	31,47	120,1

15.4. Linealidad con el test de dilución

Se han analizado diluciones en serie de dos muestras de plasma de concentración elevada de renina tanto no diluidas, como después de dilución con plasma sin renina. Las concentraciones medidas de renina obtenidas en función de las concentraciones esperadas han sido analizadas con la regresión lineal. Los coeficientes de correlación (r) estaban comprendidos entre 0,999 y 1,000.

Dilución	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación	Dilución	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación
no diluido	–	333,4	–	no diluido	–	> 500,0	–
1:2	166,7	190,5	114,3	1:2	–	396,5	–
1:4	83,4	91,7	110,1	1:4	198,3	200,0	100,9
1:8	41,7	47,3	113,5	1:8	99,1	103,1	104,0
1:16	20,8	24,7	118,6	1:16	49,6	51,3	103,6
1:32	10,4	12,1	116,3	1:32	24,8	26,2	105,8

Se han analizado dos muestras adicionales de plasma con niveles de renina por encima del intervalo de ensayo sin diluir y diluidas en serie con el diluyente para endocrinología LIAISON® Endocrinology Diluent. Los valores medidos frente a los niveles de renina esperados se analizaron mediante regresión lineal. Los coeficientes de correlación (r) fueron de 1,000.

Dilución	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación	Dilución	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación
no diluido	–	> 500,0	–	no diluido	–	> 500,0	–
1:2	–	365,8	–	1:2	–	> 500,0	–
1:4	182,9	192,9	105,5	1:4	–	397,3	–
1:8	91,5	98,2	107,4	1:8	198,7	209,5	105,5
1:16	45,7	53,6	117,2	1:16	99,3	109,3	110,0
1:32	22,9	25,5	111,5	1:32	49,7	54,9	110,5

15.5. Veracidad con el test de recuperación

Se han analizado dos grupos de muestras, cada uno de ellos formado por una muestra con concentración de renina elevada y por una muestra con concentración de renina baja o normal mezcladas en proporción 1:5, 1:2, 1:1, 2:1 y 5:1 (grupo 1: muestras X y Y - grupo 2: muestras W y Z). Los porcentajes de recuperación han sido determinados por los resultados de las muestras no diluidas. Las concentraciones medidas de renina obtenidas en función de las concentraciones esperadas han sido analizadas con la regresión lineal. Los coeficientes de correlación (r) estaban comprendidos entre 0,996 y 1,000.

Grupo 1	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación	Grupo 2	Concentración esperada, µUI/mL	Concentración medida, µUI/mL	% Recuperación
X no diluido	–	5,3	–	W no diluido	–	23,9	–
5:1	25,8	24,5	95,0	5:1	65,4	62,3	95,2
2:1	46,3	49,4	106,6	2:1	106,9	103,4	96,7
1:1	66,9	69,3	103,6	1:1	148,4	148,4	100,0
1:2	87,4	92,1	105,4	1:2	189,9	186,6	98,2
1:5	107,9	108,0	110,1	1:5	231,4	230,0	99,4
Y no diluido	–	128,4	–	Z no diluido	–	272,9	–

15.6. Efecto gancho

El efecto gancho a dosis altas (HDH, high-dose hook effect) se ha determinado añadiendo renina recombinante a un pool de plasma humano hasta una concentración máxima de 150.000 µUI/mL.
Cuando se analizan muestras que contienen concentraciones de analito extremadamente elevadas, se pueden obtener concentraciones inferiores a las reales por el efecto gancho. La presencia del efecto gancho se evaluó analizando una muestra a la que se habían añadido altas concentraciones de renina. La muestra presentó un valor de concentración por encima del intervalo de ensayo, lo que indica que la clasificación de las muestras es correcta.

15.7. Sensibilidad analítica y funcional

La sensibilidad analítica (límite de detección) se define como la mínima dosis de analito que el test puede detectar, que puede ser distinta del punto cero.

La sensibilidad analítica, calculada según las líneas guía del Instituto para Estándares Clínicos y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI, USA), Documento N. EP17-A, oscila entre 0,52 µUI/mL y 0,97 µUI/mL (determinada con varias sesiones analíticas, lotes de kit e instrumentos).

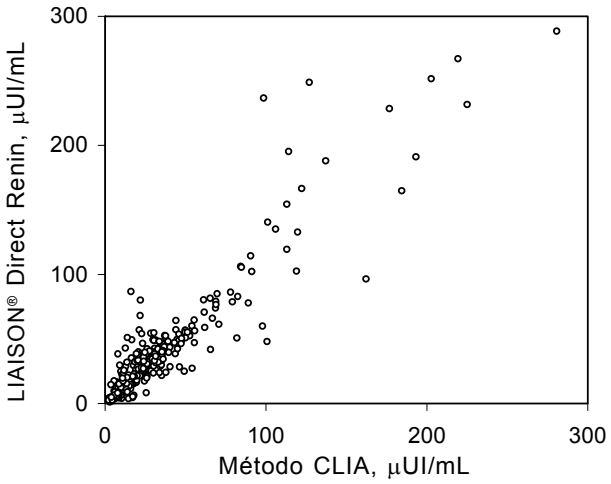
La sensibilidad analítica, definida como la mínima dosis de analito que el test puede detectar, que puede ser distinta del punto cero, es decir dos desviaciones estándar por encima de cero, oscila entre 0,13 µUI/mL y 0,53 µUI/mL (determinada con varias sesiones analíticas, lotes de kit e instrumentos).

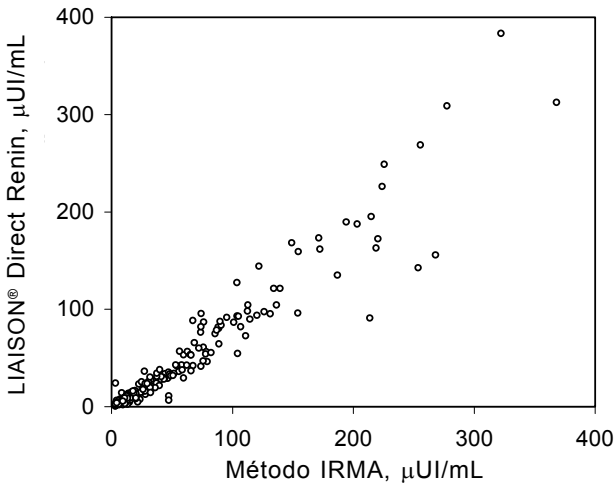
La sensibilidad funcional, definida como la concentración de analito a la que el coeficiente de variación inter-ensayo es superior al 20%, oscila entre 1,60 µUI/mL y 1,96 µUI/mL (determinada con varias sesiones analíticas, lotes de kit e instru-mentos).

15.8. Comparación con otros métodos

Se han comparado los resultados del test LIAISON® Direct Renin con los de los dos métodos de referencia (CLIA e IRMA). Se han obtenido las siguientes correlaciones:
LIAISON® Direct Renin = 1,097 x test de referencia CLIA + 2,765. Coeficiente de correlación r = 0,927 (n = 325).
LIAISON® Direct Renin = 0,900 x test de referencia IRMA – 4,304. Coeficiente de correlación r = 0,957 (n = 212).

Los valores nominales de los calibradores del test LIAISON® Direct Renin se han asignado para reflejar los datos de exactitud mostrados.





1. FINALIDAD DEL ENSAYO

Los controles LIAISON® Direct Renin (niveles 1 y 2) se utilizan en los inmunoensayos quimioluminiscentes (CLIA) LIAISON® para verificar la fiabilidad de los ensayos. No se han establecido las características del método de los controles LIAISON® Direct Renin en relación con otros ensayos o plataformas de instrumentos.

LIAISON® Analyzer. El Certificado de Análisis (Certificate of Analysis) contiene información específica sobre el lote de controles, que debe introducirse manualmente en el software del analizador antes de colocar los frascos de los controles en el instrumento. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.

LIAISON® XL Analyzer. Los códigos de barras del certificado de análisis contienen información específica sobre el lote de los controles, que debe leerse con el lector manual de código de barras del LIAISON® XL Analyzer antes de introducir los frascos de los controles. Para obtener información detallada, consulte el manual del analizador.

2. MATERIALES SUMINISTRADOS

4 x 2 frascos

4 frascos (4 x 2,0 mL) de LIAISON® Control Direct Renin (nivel 1): renina humana recombinante (proteasa ácida activa de 340 aminoácidos producida en células renales embrionarias humanas transfectadas con una construcción de DNA codificante para renina humana), tampón fosfato, albúmina sérica bovina, 0,2% ProClin® 300, conservantes.
4 frascos (4 x 2,0 mL) de LIAISON® Control Direct Renin (nivel 2): renina humana recombinante (proteasa ácida activa de 340 aminoácidos producida en células renales embrionarias humanas transfectadas con una construcción de DNA codificante para renina humana), tampón fosfato, albúmina sérica bovina, un colorante azul inactivo, 0,2% ProClin® 300, conservantes.
4 etiquetas con códigos de barras para el control Direct Renin (nivel 1) y 4 etiquetas con códigos de barras para el control Direct Renin (nivel 2).
Los controles se suministran liofilizados.

El intervalo de las concentraciones para cada control está impreso en el certificado de análisis e indica los límites definidos por DiaSorin para los valores de los controles obtenidos con test fiables. Cada laboratorio es responsable de adoptar límites diferentes para cumplir exigencias específicas.

3. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Los controles no son específicos para lote de kit. Se pueden intercambiar entre sí aunque pertenezcan a lotes diferentes.
- Observe las precauciones necesarias para la manipulación de los reactivos de laboratorio.
- Los residuos deben eliminarse de acuerdo con la reglamentación local.

4. NORMAS DE SEGURIDAD

No coma, beba, fume o se maquille durante la ejecución del ensayo.

No pipetee las soluciones con la boca.

Evite el contacto directo con el material potencialmente infeccioso usando batas de laboratorio, gafas de protección y guantes desechables. Lávese cuidadosamente las manos al terminar el ensayo.

Evite salpicaduras o formación de aerosoles. En caso de que esto sucediera, cada gota de reactivo se debe eliminar con una solución de hipoclorito sódico al 5% y el medio utilizado se deberá tratar como material residuo potencialmente infeccioso.

Todas las muestras, los reactivos biológicos del kit y los materiales usados para efectuar el ensayo se deben considerar capaces de transmitir agentes infecciosos; por lo tanto los residuos se deberán eliminar de acuerdo con las reglamentaciones de las agencias autorizadas que tengan jurisdicción sobre el laboratorio, y con las normativas de cada país.

Los reactivos que contienen ProClin® 300 se clasifican como irritantes según las Directivas Europeas aplicables:
R 43 - Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
S 24 - Evítese el contacto con la piel.
S 37 - Úsense guantes adecuados.
S 60 - Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.

5. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

No exponga los controles reconstituidos a temperatura ambiente durante más tiempo del necesario para procesarlos en el analizador.

- **Liofilizados**: Estables a 2-8°C hasta la fecha de caducidad. A su llegada, los controles deben conservarse a 2-8°C en posición vertical para evitar que el liófilo se adhiera a la tapa del frasco.
- **Reconstituidos**: Estables durante ocho semanas si se conservan a 2-8°C en los frascos originales bien cerrados o en los tubos de ensayo tapados. Después de la reconstitución, los controles deben conservarse a 2-8°C en posición vertical para evitar que la solución se adhiera a la tapa del frasco o del tubo de ensayo.

6. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

- Reconstituya el contenido de los frascos con 2,0 mL de agua desionizada o destilada.
- Espere durante 10-15 minutos a 18-25°C la disolución completa.
- Agite delicadamente los frascos por inversión. Evite la formación de espuma.
- La solución reconstituida de cada control debe transferirse en un tubo de ensayo de poliestireno de 12 x 75 mm. Coloque en el tubo de ensayo del control la etiqueta correspondiente con el código de barras y ubique en el área de las muestras del instrumento. Con una solución de control es posible realizar nueve test.
- El volumen mínimo de control necesario es 355 µL (205 µL de control + 150 µL de volumen muerto).
- Mantenga los controles en el instrumento sólo el tiempo necesario para realizar el test de control de calidad.
- Después del uso, tape los tubos de ensayo lo antes posible y manténgalos a 2-8°C en posición vertical.
- Durante la manipulación de los controles, adopte las precauciones necesarias para evitar la contaminación microbiana.

7. MANIPULACIÓN

– Coloque los tubos de transferencia con código de barras en una de las gradillas con muestras del paciente del analizador.
– Consulte las instrucciones de manipulación en el manual del analizador.

8. VALORES ESPERADOS

En el certificado de análisis se indican los intervalos y valores previstos de concentración de renina en los controles. Se han establecido considerando la variabilidad de las sesiones analíticas respecto de la curva maestra almacenada, a fin de garantizar unos resultados analíticos exactos y de obtener indicaciones sobre la estabilidad o el deterioro de los reactivos. Si los valores de control se mantienen repetidamente fuera del rango previsto, es muy probable que el ensayo se haya realizado de forma incorrecta.